Untersuchungen über den Nachweis von intravenös eingeführtem artfremdem Eiweiss in der Blutbahn des Kaninchens

mittels Präcipitation, Komplementbindung und Anaphylaxie

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN

Von

Arthur Hintze

approbiertem Arzt aus Wilhelmshaven

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Promotion: 26. März 1910

Berlin 1910

288

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin.

Referent: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. **Flügge.**

Abdruck aus der
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.
I. Teil. Originale. Bd. VI. Heft 1.

Meiner Mutter.

Artfremdes Eiweiß kreist in der Blutbahn unter Bedingungen, die, wenn sie auch nicht mehr zu den völlig physiologischen gerechnet werden können, doch andererseits nicht in das Gebiet der Krankheit fallen. Jede reichlichere Zuführung von Eiweiß in den Magen-Darmkanal kann zum unmittelbaren Uebertritt gewisser, ihre Arteigenheit bewahrender Anteile in die Blutbahn führen [Uhlenhuth (1), Ascoli (2)]; bei gestörter Verdauungstätigkeit ist dies wahrscheinlich häufig genug in erhöhtem Maße der Fall [Kentzler (3)]. Im Blute kreisend erzeugt das artfremde Eiweiß Zustandsänderungen, deren Bedeutung für das Auftreten krankhafter Erscheinungen noch nicht genügend klargestellt ist. Beim Neugeborenen eine erhöhte Disposition für den Uebertritt von artfremdem Eiweiß in die Blutbahn anzunehmen, lag nahe, doch sind die darüber vorliegenden Befunde beim menschlichen Neugeborenen teils negativ [Hamburger und Sperk (4)], teils anfechtbar [Ganghofner und Langer (5)]; auch bei atrophischen Kindern fanden sich nur in einzelnen Fällen Anteile der zur Ernährung benutzten Kuhmilch im Blute vor [Bauer (6), Moro (7)]. Die Ausscheidung des artfremden Eiweißes durch die Nieren findet offenbar unter gestörten Bedingungen statt, indem nicht nur artfremdes Eiweiß, sondern zugleich auch dem Individuum selbst entstammendes Eiweiß ausgeschieden wird [Ascoli (8)]; leichte pathologisch-anatomisch feststellbare Schädigungen der Nieren kommen dabei vor [Stokvis, Sosath u. a. (9)].

Ein besonderes Interesse wird dem Verhalten des mit Immunkörpern direkt in die Säftebahn einverleibten artfremden Eiweißes entgegengebracht. Hier ist besonders die Länge der Zeit, während deren sich das artfremde Serum im Kreislauf erhält, von Wichtigkeit; die Hypothese v. Behrings, daß die kurze Dauer der passiven Immunität auf der rascheren Ausscheidung heterologer Sera beruhe, ist für die Antitoxine durch Untersuchungen von Ransom (10) in Frage gestellt; für die bakteriolytischen Immunkörper zeigten Pfeiffer und Friedberger (11), für die Agglutinine Jörgensen und Madsen (12), sowie Kraus und Joachim (13) den durchaus nicht gesetzmäßig in allen Individuen sich zeigenden rascheren Schwund der mit

heterologem Serum eingeführten Antikörper; Römer und Sames (14) berichteten jüngst über Fälle von mehrmonatiger Haltbarkeit von Tetanusantitoxin bei mit derartigem antitoxinhaltigem Pferdeserum injizierten Schafen. Letztere Autoren halten gleichwohl an der unzertrennlichen Verknüpfung von Antitoxin mit Eiweiß fest und betrachten demgemäß den Antitoxinnachweis als Eiweißnachweis, dem sie sogar als dem empfindlichsten (er vermag $^1/_{800}$ Millionstel Antitoxin, also nach dieser Annahme antitoxisches Eiweiß anzuzeigen) die erste Rangstufe zuerkennen.

Intravenös injiziertes Eiweiß in seinem zeitlichen und in gewissem Grade auch quantitativen Verhalten direkt mittels biologischer Methoden zu verfolgen, hat zuerst v. Dungern (15) unternommen, und zwar mit der damals allein bekannten Methode der Präzipitation. Er injizierte Serum von Cephalopoden und kurzschwänzigen Krebsen in die Blutbahn von Kaninchen und beobachtete, daß das artfremde Eiweiß für den Nachweis mittels der Präzipitation innerhalb von 5 Tagen völlig aus der Blutbahn schwand; kurz nach dem Eintreten dieses Zeitpunktes konnte er das Auftreten von Präzipitinbildung nachweisen, die in etwa 2 Tagen eine gewisse Höhe erreichte und sich auf dieser noch etwa eine Woche behauptete; dann erfolgte stufenweise innerhalb einer weiteren Woche das Absinken bis zum völligen Verschwinden. — Das Verhalten von Pferdeserum im menschlichen Organismus prüften Hamburger und Moro (16) an mit Scharlach- und Diphtherieserum subkutan behandelten Patienten; sie wiesen das fremde Serum bei Injektionen von 200 ccm bis längstens zum 31. Tage nach und beobachteten das Auftreten von Präzipitin frühestens am 16. Tage; die durchschnittlich etwa 8 Tage währende gleichzeitige Nachweisbarkeit von Antigen und Antikörper war für den Menschen charakteristisch, während beim Kaninchen diese Periode nur vom 6. bis 9. Tag andauerte. — Dehne und Hamburger (17) untersuchten das Verhalten von subkutan eingeführtem tetanusantitoxinhaltigen Pferdeserum bei Kaninchen; ihre Feststellungen sind mit den genannten von Hamburger und Moro angeführten in Uebereinstimmung. — Vergleichende Beobachtungen über das Verhalten von Eiweißstoffen ungleicher physiologischer Dignität bei intravenöser Injektion stellten Hamburger und Reuss (18) an; sie fanden für die Sera verschiedener Warmblüter, daß sie sich in der Blutbahn des Versuchstieres in den ersten 24 Stunden zwar rasch verminderten, daß dann aber eine Reihe von Tagen nur ein langsames Absinken zu verzeichnen war, bis der Rest um den 10. Tag herum unter gleichzeitigem Auftreten von Präzipitinen schwand; Milch und Eiklar dagegen waren schon nach 24 Stunden nur noch in Verdünnung 1:5 bezw. 1:1 mit der Präzipitinreaktion nachweisbar; sie erhielten sich immerhin in Spuren noch bis zum 3.—4. Tage; eine Präzipitinbildung lösten letztere Eiweißkörper nach ihrer Beobachtung bei einmaliger Injektion nicht aus. Uhlenhuth und Weidanz konnten bei mit 5 ccm Pferdeserum intravenös vorbehandelten Kaninchen mittels der Präzipitation das Vorhandensein von Antigen bis zum 15. Tage, das Auftreten der Antikörper vom 8. Tage an nachweisen.

Nach dem Bekanntwerden des Gengou-Moreschischen Phänomens von der komplementbindenden Wirkung eines durch Einführung von art-

fremdem Eiweiß erzeugten Antikörpers haben Friedemann und Isaac (19) anläßlich ihrer Arbeiten über den Eiweißstoffwechsel nach parenteraler Einführung von artfremdem Eiweiß das Verhalten des intravenös eingeführten Serums bezw. Eiereiweiß auch mit der Komplementbindungsmethode verfolgt; sie erhielten bei ihren Versuchshunden von den mittels der Präzipitation gefundenen Resultaten abweichende Werte mit der Komplementbindung.

Neuerdings wurde die Anaphylaxie — d. h. die durch Zufuhr artfremden Eiweißes erzeugte Disposition zu einer Erkrankung mit wohlcharakterisierten Symptomen bei erneuter Einführung des biologisch gleichen Eiweißstoffes — als Methode zur Erkennung der Arteigenheit von Eiweißstoffen den beiden vorhandenen angereiht (Uhlenhuth und Haendel. Pfeiffer, Thomsen, Sleeswijk).

Eine Untersuchung, welche die Verfolgung von in die Blutbahn eingeführtem artfremden Eiweiß mit diesen beiden neueren Methoden im Vergleich mit der Präzipitation durchführte, liegt meines Wissens in der Literatur nicht vor. — Es war von vornherein zu erwarten, daß die drei Methoden nicht ein gleiches Resultat liefern würden. Einerseits ist es bekannt, daß diese Methoden eine verschiedene Leistungsfähigkeit aufweisen hinsichtlich der kleinsten Mengen, die sie noch nachzuweisen gestatten. Römer und Sames (14) geben darüber folgende Uebersicht. Der Nachweis des Vorhandenseins von Eiweiß (bezw. von Eiweiß in seiner Arteigenheit) gelingt bis zu Verdünnungen

bei der Präzipitation noch bis 1 : 500 000
mittels Komplementbindung bis 1 : 10 000 000
(nach einer Angabe von Friedberger noch bis 1 zu 10 Milliarden)
mit der Anaphylaxiereaktion ebenfalls bis 1 : 10 000 000

Es war also möglich, daß der Nachweis des artfremden Eiweißes mit der Komplementbindung und Anaphylaxie sich noch länger erbringen lassen würde als mit der Präzipitation.

Andererseits steht es nicht fest, welche die Arteigenheit beibehaltenden Abbauprodukte des Eiweißes etwa bei den verschiedenen Methoden noch die biologische Reaktion des Eiweißes geben.

Im folgenden soll nun diese Verschiedenheit, in der sich der biologische Prozeß des Schwindens von artfremdem Eiweiß aus der Blutbahn mit den drei Prüfungsmethoden darstellt, zeitlich und soweit angängig quantitativ verfolgt werden; das Auftreten und die Zunahme der betreffenden Antikörper sollte nur, soweit es mit in die Beobachtungszeit fiel, in den Bereich der Untersuchungen gezogen werden. — Ohne auf die von Obermayer und Pick (20) auf chemischem, von Friedemann und Isaac (19) auf physiologischem Wege in Frage gestellte Dignität der biologisch nachzuweisenden artspezifischen Substanzen als Eiweißkörper einzugehen, soll hierbei unter „Eiweiß“ schlechtweg der artspezifische, mit dem injizierten genuinen Eiweiß eingeführte Komplex verstanden werden, wie ihn die jeweils besprochene biologische Prüfungsmethode nachzuweisen gestattet.

Da differente Eiweißstoffe, wie besonders die Versuche von Hamburger und Reuss zeigen, ein verschiedenes Verhalten in der Blutbahn aufweisen können, wurde einerseits Serum, andererseits ein nicht dem Blutkreislauf unmittelbar entstammender Eiweißkörper der Untersuchung unterzogen: mit Rücksicht auf vorhandene, gegen diese Eiweißstoffe gerichtete, hochwertige präzipitierende Antisera wurden Pferdeserum und Hühnereidotter gewählt.

Es wurden zwei Versuchsreihen mit je 4 Kaninchen von ca. 2300 g Gewicht angesetzt. Die Tiere der ersten Reihe erhielten je 5 ccm Pferdeserum, die der zweiten je 10 ccm einer 50-proz. Dotterlösung (0,85 Proz. NaCl-Lösung) intravenös. Die erste Blutentnahme erfolgte nach 2 Stunden: die weiteren Entnahmen wurden an den Tieren jeder Serie abwechselnd, mitunter auch an 2 Tieren gleichzeitig ausgeführt und bis zum 16. bezw. 19. Tage fortgeführt; obgleich die Häufigkeit und das Quantum der Entnahmen, um eine zu schwere Schädigung der Tiere zu vermeiden, beschränkt wurden, waren am 19. Tage nur noch 3 Tiere der zweiten Versuchsreihe am Leben. Da weitere vergleichende Untersuchungen somit unmöglich wurden, wurden die Versuchsreihen hiermit geschlossen.

I. Präzipitation.

a) Nachweis des injizierten Pferdeserums und des gegen das Pferdeeiweiß gerichteten Präzipitins.

Das zum Nachweise der präzipitablen Substanz des Pferdeserums benutzte Antiserum war durch zweimalige intravenöse Injektion von je 2 ccm und zweimalige intraperitoneale von je 5 ccm Pferdeserum vom Kaninchen gewonnen, durch Berkefeldfilter filtriert und ca. 4 Wochen in zugeschmolzenen Glasröhrchen in Mengen von je 1 ccm im Eisschrank aufbewahrt worden. Nach der Uhlenhuthschen Vorschrift ausgewertet zeigte es einen Titer von 1:20000.

Zur Untersuchung kamen Blutproben von folgenden Tagen:

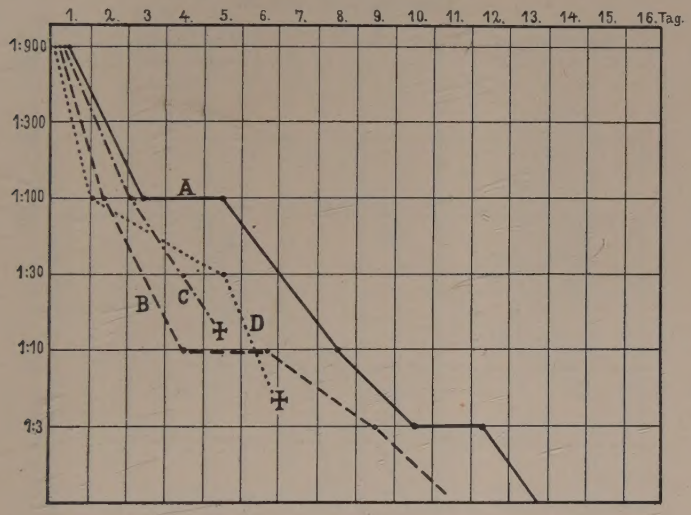
Kaninchen	A	1	.	3	.	5	.	8	.	10	12	13	16
	B	1	2	.	4	.	6		9	.	.	13	16
	C	1	.	3	4	.	†		.				
	D	1	2	.	.	5	6		†				

Die Präzipitierungsproben wurden in Uhlenhuthschen Röhrchen und vom 4. Tage an auch nach der von Weidanz modifizierten Hauser-Carnwathschen Kapillarmethode vorgenommen. Zum Nachweis des Pferdeserums wurden Verdünnungen der Kaninchensera mit physiologischer Kochsalzlösung bis 1:1200 hergestellt, und in den Röhrchen je 1 ccm

der Verdünnungen mit 0,1 ccm Antiserum beschickt, in den Kapillaren das Antiserum mit den Verdünnungen überschichtet. Abgelesen wurde gemäß den Uhlenhuthschen Vorschriften. Nicht innerhalb von 20 Minuten auftretende Trübungen wurden nicht gerechnet.

Das Resultat der Untersuchungen auf Präzipitinogen ist in der beigefügten graphischen Darstellung wiedergegeben.

Kurve 1. Verhalten der präzipitablen Substanz des Pferdeserums bei Kaninchen A, B, C und D.



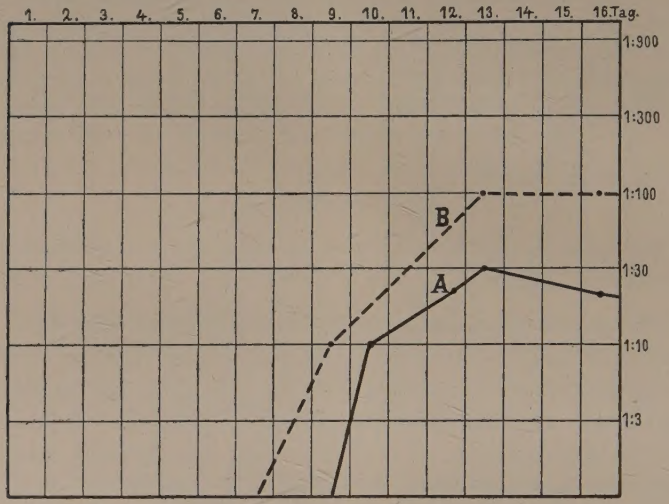
Rechnet man den Blutgehalt eines Kaninchens mittlerer Größe zu 125 ccm, so kann man das Pferdeserum als in 4-proz. Lösung annehmen; bringen wir die Erythrocyten in Abzug, so ist die Konzentration eine etwas höhere, etwa 1:15 bis 1:20. Jedenfalls befanden sich die nach 2 Stunden gefundenen Präzipitierungswerte an der oberen Titergrenze, eine wesentliche Abnahme des Pferdeserums hatte also nicht stattgefunden. Bis zum 3. Tage erfolgte nun ein recht beträchtliches Absinken, das jedoch weiterhin sich in deutlich gemäßigterer Weise fortsetzte, bis der Rest sich zwischen dem 9. und 12. Tage dem Nachweis entzog.

Das Auftreten der Präzipitine wurde vom 4. Tage an mit Verdünnungen von Pferdeserum in physiologischer Koch-

salzlösung bis 1:900 ebenfalls mit der Röhrchen- und Kapillarmethode geprüft. In den Proben mit reinem Pferdeserum, die wegen des schwereren spezifischen Gewichts dieses Serums gegenüber Kaninchenserum in umgekehrter Reihenfolge in die Kapillaren einzufüllen waren, blieb die Präzipitatbildung aus.

Die Ablesungen sind in folgender Uebersicht enthalten:

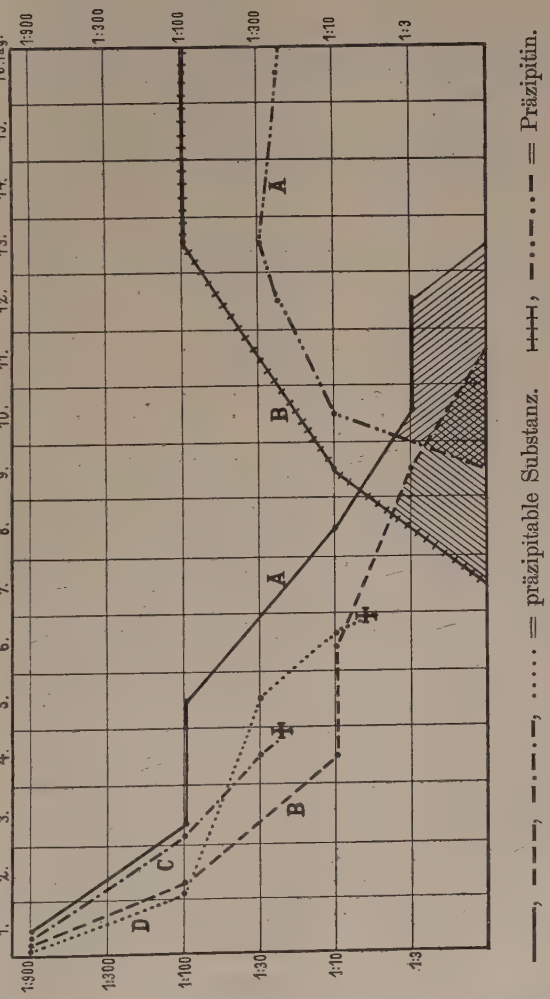
Kurve 2. Verhalten des gegen Pferdeserum gerichteten Präzipitins bei Kaninchen A und B.



Wir sehen das Präzipitin zwischen dem 7. und 10. Tage auftreten und ziemlich rasch ansteigen. Am 13. Tage hatte es bereits seine Höhe erreicht, auf der es sich in den nächsten Tagen annähernd erhielt.

Die dritte Uebersicht stellt das Verhältnis von Schwinden der präzipitablen Substanz und Auftreten des Präzipitins dar. Eine derartige Eintragung der für Präzipitinogen und Präzipitin gefundenen Werte auf gleichen Ordinaten soll natürlich nicht das tatsächliche Wertverhältnis der beiden Substanzen zueinander in Beziehung setzen; das injizierte Pferdeserum kann ja im vorliegenden Falle nur bestenfalls im Verhältnis von etwa 1:20 vorhanden sein.

Die Uebersicht zeigt, daß das Präzipitin auftritt, wenn die präzipitable Substanz auf ein gewisses geringes Maß zurückgegangen ist, daß bis zum völligen Schwinden des Präzipitinogens zwischen dem 11. und 13. Tage 3 bis 4 Tage



Kurve 3. Verhalten der präzipitablen Substanz des Pferdeserums zu der des Präzipitins in der 1. Versuchsreihe.

vergehen, und daß dann das Präzipitin schon in reichlicherem Maße vorhanden ist. Es findet also ein Nebeneinanderbestehen von präzipitabler Substanz und Präzipitin für die Dauer von 3—4 Tagen statt.

b) Nachweis des injizierten Dottereiweißes und des Auftretens der gegen dasselbe gerichteten Präzipitine.

Zum Nachweise des Dottereiweißes wurde ebenfalls ein vom Kaninchen stammendes präzipitierendes Antiserum benutzt; es war durch zweimalige intravenöse Injektion von je 0,5 ccm und zweimalige intraperitoneale von je 1,5 ccm einer 25-proz. Dotterlösung gewonnen, wie das oben genannte Pferdeantiserum weiter behandelt worden und seit 5 Wochen aufbewahrt. Es zeigte eine Empfindlichkeit noch für Dotterlösungen von 1:30000.

Von den 4 Dotterkaninchen kamen Serumentnahmen von folgenden Tagen zur Untersuchung:

Kaninchen	I	1	2	3	.	5	.	7	11	13	.	.	19
	II	1	2	3	.	†	.	.	.	.	.	.	.
	III	1	2	.	4	.	.	7	.	.	14	18	.
	IV	1	.	3	.	.	6	7	.	.	14	18	.

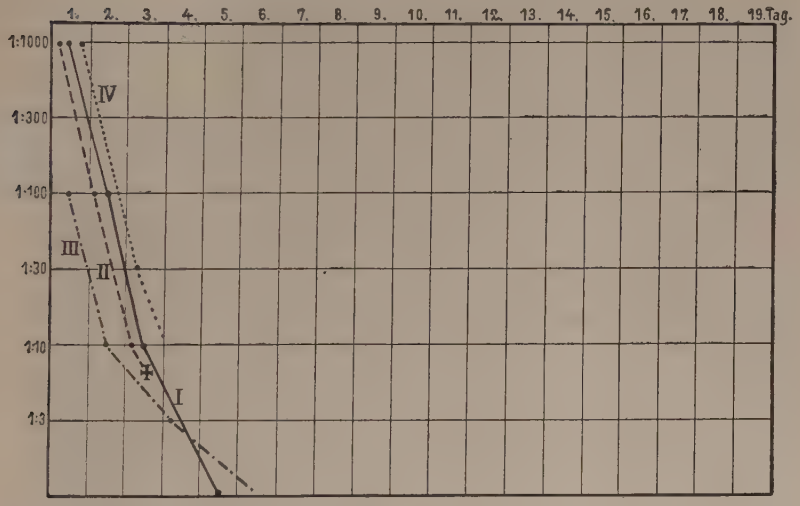
Der Nachweis des Dottereiweißes in dem Kaninchenserum erfolgte in derselben Weise, wie der des Pferdeserums; es wurden Uhlenhuthsche Röhrchen mit je 1 ccm der Serumverdünnungen bis 1:1200 beschickt und jeweils 0,1 ccm des Dotterantiserums zugefügt. Vom 4. Tage an wurde ebenfalls die Reaktion auch mit der Kapillarmethode angestellt.

Die Kurve 4 enthält die für die einzelnen Entnahmen gefundenen Resultate.

Entsprechend den bei der Untersuchung des Pferdeserums erhaltenen Befunden wurde auch hier 2 Stunden nach der Injektion das Dottereiweiß selbst in Verdünnungen des Kaninchenserums von 1:900 noch nachgewiesen, bei einem Versuchstier allerdings nur in der Verdünnung 1:100; am 2. Tage waren die Mengen, wie auch zum Teil beim Pferdeserum, bereits auf die Nachweisbarkeit in der Serumverdünnung 1:100 zurückgegangen. Weiter erfolgte jedoch das Absinken hier in unverminderter Geschwindigkeit, so daß am 3. Tage nur noch Verdünnungen von 1:10 eine Präzipitatbildung aufwiesen. Mit einer geringen Verzögerung gegen den Schluß hin endete die Kurve der Nachweisbarkeit des Dotterpräzipi-

tinogens am 5.—6. Tage. Es zeigen also diese Befunde eine Analogie mit dem raschen Verschwinden von Milch bezw. von Eiklar aus der Blutbahn des Kaninchens, wie es von Hamburger und Reuss und von Friedemann und Isaac nachgewiesen worden ist.

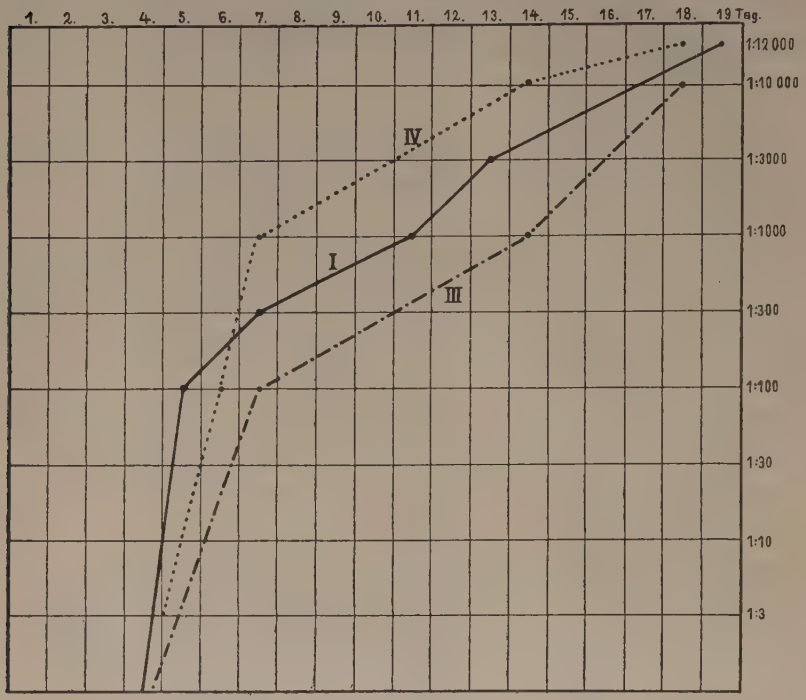
Kurve 4. Verhalten der präzipitablen Substanz des Dotters bei den Kaninchen I, II, III und IV.



Vom 3. Tage an wurden die Serumentnahmen auch bezüglich des Auftretens von Präzipitin untersucht. Da Dotterlösungen von 1:400 noch milchig getrübt und undurchsichtig sind und bei einer Verdünnung 1:800 erst durchscheinend werden, so wurden die stärkeren Konzentrationen nach dem Zusetzen des Kaninchenserums gemäß der Anweisung von Uhlenhuth geschüttelt und die nach einiger Zeit erfolgende Ausflockung und Klärung der Flüssigkeit beobachtet; diese war besonders in der Verdünnung 1:1000 deutlich. Verdünnungen von 1:3000 an waren klar und ließen die Beobachtung der Reaktion in der üblichen Weise ohne weiteres zu.

Die Ergebnisse der Prüfung dieser Versuchsreihe enthält die folgende Kurve:

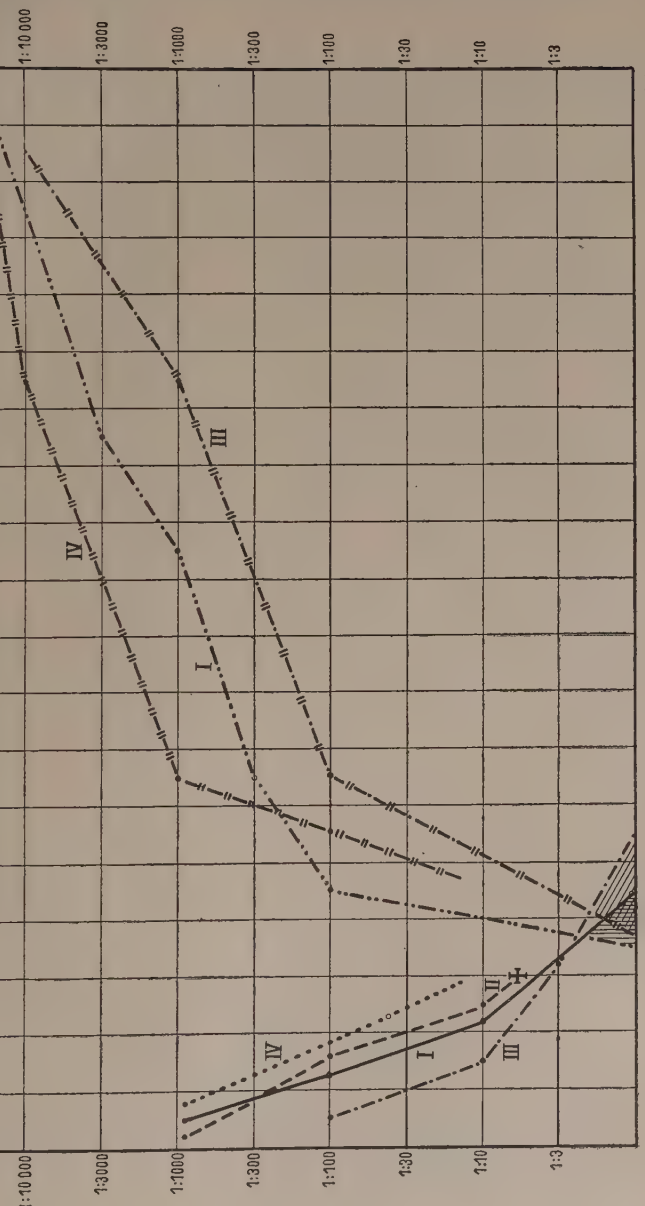
Kurve 5. Verhalten des gegen das Dottereiweiß gerichteten Präzipitins.



Es zeigte sich, daß das Auftreten von Präzipitin nach Dotterinjektion schon am 4.—5. Tage nachweisbar war, und daß das Präzipitin rasch sich vermehrend nach 2 weiteren Tagen schon in Dotterverdünnungen von 1:100 sich aufweisen ließ. Das weitere Ansteigen erfolgte langsamer, jedoch konstant; am 18. Tage hatte eines der Sera eine präzipitierende Fähigkeit gegenüber Dotterlösungen von 1:10000 erreicht; die beiden anderen Sera hatten diesen Wert sogar schon bis 1:12000 überschritten. Die Präzipitinbildung trat hier also früher auf als beim Pferdeserum, stieg rascher an und erreichte höhere Werte. Einen gewissen Gegensatz bildete dies Verhalten des Dotterpräzipitins zu dem Verhalten von Milch und Eiklar, deren einmalige Injektion nach Hamburger und Reuss überhaupt keine Präzipitinbildung hervorruft.

Stellen wir wiederum das Verhalten von Präzipitinogen

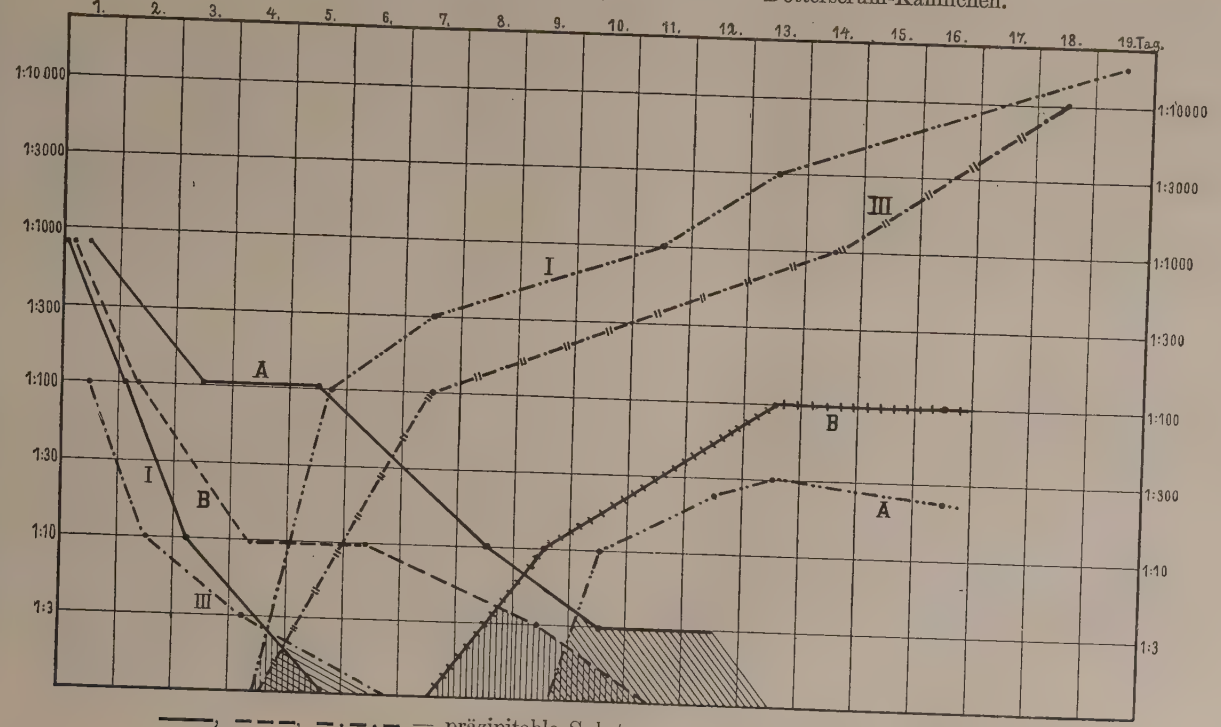
und Präzipitin in einer Uebersicht zusammen, so ergibt sich folgendes:



Kurve 6. Verhalten von präzipitabler Substanz und Präzipitin nach Dotterinfektion in der 2. Versuchsreihe.

Es war also entsprechend dem Verhalten nach Injektion von Pferdeserum das Auftreten freien Präzipitins schon vor

Kurve 7. Verhalten von präzipitabler Substanz und Präzipitin bei Dotter- und bei Pferde-Antiserum. A und B = Pferdeserum-Kaninchen; I und III = Dotterserum-Kaninchen.



dem völligen Schwinden der präzipitablen Substanz nachweisbar, jedoch beschränkte sich die Zeit, in der beide Faktoren sich nebeneinander nachweisen ließen, bei der Dotterinjektion auf etwa einen Tag.

Die erhobenen Befunde stimmen also mit den von Hamburger und Reuss gemachten Angaben über das verschiedene Verhalten differenter Eiweißkörper in der Blutbahn insofern überein, als der Dotter ebenso ein rascheres Absinken gegenüber dem Pferdeserum zeigte, wie es jene Autoren für Eiklar und Milch festgestellt hatten; immerhin verlief die Kurve des abnehmenden Dotters nicht so steil; die große Verschiedenheit im Titer der von jenen Autoren benutzten Antisera beeinträchtigt allerdings die Vergleichbarkeit ihrer Resultate. Auf das differente Verhalten bezüglich der Präzipitinbildung ist vorstehend bereits hingewiesen.

Das Verhalten des Eidotter gegenüber dem des Pferdeserums ist kurz in Kurve 7 zusammengefaßt.

Während Eidotter bis zum 5.—6. Tage aus der Blutbahn verschwand, war Pferdeserum noch bis zum 10.—12. Tage nachweisbar, während das Präzipitin des Eidotters am 4. Tage etwa sich zeigte, trat dies bei dem Präzipitin des Pferdeserums erst etwa am 8.—9. Tage ein. Dem raschen Ablauf des Präzipitinogenschwundes und Präzipitinanstieges beim Eidotter stand ein langsamerer Verlauf beim Pferdeserum gegenüber; das gleichzeitige Nachweisbarwerden von präzipitabler Substanz und Präzipitin erstreckte sich beim Eidotter auf nur 1—1½ Tage, beim Pferdeserum auf etwa 3 Tage.

Diese bei Untersuchungen an einem kleineren Tiermaterial erhaltenen Ergebnisse sollen natürlich nun nicht als für alle Fälle in gesetzmäßiger Weise allgemein gültig hingestellt werden.

II. Komplementablenkung.

Zunächst sei bezüglich der Technik bemerkt, daß bei allen nachstehend angeführten Komplementbindungsversuchen ein künstliches hämolytisches System — Kaninchen-Immunserum gegen Hammelblut — zur Anwendung kam; dreimal gewaschene Blutkörperchen wurden in 5-proz. Aufschwemmung (0,85-proz. NaCl-Lösung) 30 Minuten vor dem Zusatze bei Zimmertemperatur sensibilisiert. Die kleinste (1 ccm der Hammelblutaufschwemmung mit 0,05 ccm Meerschweinchenkomplement) komplett lösende Dosis des Ambozeptors betrug 0,001 ccm. Die benutzten Sera und Antisera waren inaktiviert (½ Stunde bei 60°).

a) Nachweis des Pferdeserums und des entsprechenden komplementbindenden Antikörpers.

Als Antiserum wurde zunächst das auch für die Präzipitation benutzte Pferdeantiserum No. 373 verwendet. Bei der Auswertung auf seine komplementbindende Kraft zeigte es sich jedoch, daß es trotz seines hohen Präzipitationstiters nur geringe komplementbindende Eigenschaften besaß. Bei Anwendung der doppelten komplett lösenden Ambozeptordosis mit 0,1 ccm Komplement zeigte es überhaupt keine ablenkende Wirkung, und auch bei Verringerung des Ambozeptors und des Komplements auf die eben noch komplette Lösung bewirkende Menge waren die Ausschläge nur sehr gering. Die nachstehenden Tabellen zeigen die Auswertung gegen 0,001 ccm und 0,0001 ccm Pferdeserum.

Tabelle I[1]).

Auswertung von Antiserum 373 gegen 0,001 Pferdeserum.

Antiserum 373	0,2 ccm Pferdeserum 1:200	Meerschweinchenkomplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,2	0,05	1 Stunde bei 37°	1,0	komplett
0,07	0,2	0,05		1,0	fast komplett
0,05	0,2	0,05		1,0	mäßig
0,03	0,2	0,05		1,0	mäßig
0,01	0,2	0,05		1,0	fast komplett
0,001	0,2	0,05		1,0	komplett
0,1	—	0,05		1,0	
0,07	—	0,05		1,0	
0,05	—	0,05		1,0	komplett
0,03	—	0,05		1,0	
0,01	—	0,05		1,0	
0,001	—	0,05		1,0	
—	0,2	0,05		1,0	komplett
—	—	0,05		1,0	komplett

Hemmende Minimal-Dosis: Grad der Lysis:
Antiserum 373 0,01 + Pferdeserum 0,001 fast komplett
Optimum: 0,03—0,05 Antiserum mäßig

1) Anmerkung. Hämolytisches System = dreimal gewaschene Hammelblutkörperchen in 5-proz. Aufschwemmung, mit Ambozeptor 0,02 : 20,0 ½ Stunde vor dem Zusetzen bei Zimmertemperatur sensibilisiert. Komplement = frisches Meerschweinchenserum. Antiserum 373, 303 = inaktiviertes Pferde-Antiserum 373, 303 etc. Pferdeserum 1:2000 = Pferdeserum in Verdünnung 1:2000, inaktiviertes Serum A_1, C_3 etc. = inaktiviertes Serum des Kaninchens A vom 1. Tage, des Kaninchens C vom 3. Tage etc.

Tabelle II.

Auswertung von Antiserum 373 gegen 0,0001 Pferdeserum.

Antiserum 373	Pferdeserum 1:2000	Meerschweinchenkomplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,2	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	komplett
0,07	0,2	0,05		1,0	komplett
0,05	0,2	0,05		1,0	mäßig
0,03	0,2	0,05		1,0	fast komplett
0,01	0,2	0,05		1,0	komplett
—	0,2	0,05		1,0	komplett

Hemmende Minimal-Dosis: Grad der Lysis:
Antiserum 373 0,03 + Pferdeserum 0,0001 fast komplett
Optimum: 0,05 Antiserum mäßig

Trotz des geringen Ausschlags wurde versucht, die Blutentnahmen des ersten Tages von Kaninchen A und B auf den Gehalt auf Pferdeserumeiweiß mit diesem Antiserum zu prüfen; das Ergebnis war folgendes:

Tabelle III.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum A_1 und B_1. 1. Tag.

Serum A_1	Antiserum 373	Meerschweinchenkomplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,2	0,05	0,05	1 Stunde bei 37°	1,0	komplett
0,1	0,05	0,05		1,0	komplett
0,05	0,05	0,05		1,0	fast komplett
0,03	0,05	0,05		1,0	stark
0,01	0,05	0,05		1,0	komplett
0,2	—	0,05		1,0	
0,1	—	0,05		1,0	
0,05	—	0,05		1,0	komplett
0,03	—	0,05		1,0	
0,01	—	0,05		1,0	
—	0,05	0,05		1,0	komplett
Serum B_1					
0,2	0,05	0,05		1,0	komplett
0,1	0,05	0,05		1,0	komplett
0,05	0,05	0,05		1,0	fast komplett
0,03	0,05	0,05		1,0	mäßig
0,01	0,05	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

1. Tag
H. M.-D.: Serum A 1 0,03 + Antiserum 373 0,05 Gr. d. L.: stark
„ B 1 0,03 + „ 373 0,05 „ „ „ mäßig

Da der Ausfall zeigte, daß das Antiserum trotz seiner gut präzipitierenden Wirkung sich für den Nachweis des Pferdeserum mittels der Komplementbindung nicht eignete, so wurden zwei andere, Pferdeserum präzipitierende Kaninchen-Antisera zu den Versuchen herangezogen. Diese waren gewonnen durch zweimalige intravenöse Injektion von je 2 ccm und zweimalige intraperitoneale von je 5 ccm Pferdeserum und hatten ebenfalls einen Präzipitierungstiter von 1 : 20000. Ihre Auswertung gegen 0,0001 Pferdeserum führte zu folgendem Ergebnis:

Tabelle IV.

Auswertung des Antiserums 303 gegen 0,0001 Pferdeserum.

Antiserum 303	Pferdeserum 1 : 2000	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,2	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	komplett
0,07	0,2	0,05		1,0	stark
0,05	0,2	0,05		1,0	fast komplett
0,03	0,2	0,05		1,0	komplett
0,01	0,2	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

H. M.-D.: Antiserum 303 0,05 + Pferdeserum 0.0001 G. d. L.: fast komplett
Optimum: 0,07 Antiserum „ „ „ stark

Tabelle V.

Auswertung des Antiserums 363 gegen 0,0001 Pferdeserum.

Antiserum 363	Pferdeserum 1 : 2000	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,2	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	fast komplett
0,07	0,2	0,05		1,0	stark
0,05	0,2	0,05		1,0	mäßig
0,03	0,2	0,05		1,0	gering
0,01	0,2	0,05		1,0	stark
0,005	0,2	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

H. M.-D.: Antiserum 363 0,01 + Pferdeserum 0,0001 Gr. d. L.: stark
Optimum: 0,03 „ „ „ gering

Auch diese Sera besaßen also nur geringe komplementbindende Wirkung, da aber weitere Antisera nicht zur Verfügung standen, wurde der Versuch gemacht,

den Nachweis des Pferdeserums mit dem Antiserum 363 zu führen.

Als Testdosis wurde 0,03 ccm gewählt und das Antiserum zunächst hiermit gegen fallende Mengen Pferdeserum austitriert; es ergab sich das folgende Resultat:

Tabelle VI.

Auswertung der Testdosis 0,03 vom Antiserum 363 gegen fallende Mengen Pferdeserum.

Pferdeserum	Antiserum 363	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,03	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	0
0,01	0,03	0,05		1,0	fast 0
0,001	0,03	0,05		1,0	fast 0
0,0001	0,03	0,05		1,0	gering
0,00005	0,03	0,05		1,0	komplett

H. M.-D.: Pferdeserum 0,0001 + Antiserum 363 0,03 Gr. d. L.: gering

Das Antiserum 363 zeigte also mit 0,03 ccm immerhin, wenn auch mit schwachem Ausschlag, noch 0,0001 Pferdeserum an. Die mit den Entnahmen vom 1., 2. und 3. Tage angestellten Versuche ergaben folgende Resultate:

Tabelle VII.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum C_1 und D_1 und Antiserum 363. 1. Tag.

Serum C_1	Serum D_1	Antiserum 363	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Serum C_1	Ergebnis Serum D_1 Die Lysis war
0,2	0,2	0,03	0,05	1 Stunde bei 37°	1,0	komplett	komplett
0,1	0,1	0,03	0,05		1,0	komplett	stark
0,05	0,05	0,03	0,05		1,0	stark	mäßig
0,03	0,03	0,03	0,05		1,0	mäßig	mäßig
0,01	0,01	0,03	0,05		1,0	fast kmpl.	stark
0,005	0,005	0,03	0,05		1,0	komplett	fast kmpl.
0,001	0,001	0,03	0,05		1,0	komplett	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

1. Tag

H. M.-D.: Serum C_1 0,01 + Antiserum 363 0,03 Gr. d. L.: fast komplett
„ B_1 0,005 + „ 363 0,03 „ „ „ „ „

Tabelle VIII.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum D_2 und Antiserum 363. — 2. Tag.

Serum D_2	Antiserum 363	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,2	0,03	0,05	1 Std. bei 73°	1,0	komplett
0,1	0,03	0,05		1,0	komplett
0,05	0,03	0,05		1,0	stark
0,03	0,03	0,05		1,0	fast komplett
0,01	0,03	0,05		1,0	fast komplett
0,005	0,03	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

2. Tag

H. M.-D.: Serum D_2 0,01 + Antiserum 0,03 Gr. d. L.: fast komplett

Tabelle IX.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum A_3 und C_3 und Antiserum 363. — 3. Tag.

Serum A_3	Serum C_3	Antiserum 363	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Serum A_3	Ergebnis Serum C_3 Die Lysis war
0,2	0,2	0,03	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	komplett	komplett
0,1	0,1	0,03	0,05		1,0	fast kmpl.	komplett
0,05	0,05	0,03	0,05		1,0	fast kmpl.	fast kmpl.
0,03	0,03	0,03	0,05		1,0	komplett	komplett
0,01	0,01	0,03	0,05		1,0	komplett	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

3. Tag

H. M.-D.: Serum A_3 0,05 + Antiserum 363 0,03 Gr. d. L.: fast komplett
„ C_3 0,05 + „ 363 0,03 „ „ „ „ „

Es waren demnach bereits am 3. Tage fast keine für das Vorhandensein von Pferdeserum sprechende Ausschläge mehr zu erhalten; die weiterhin angesetzten Versuche sollen, da sie sämtlich ein negatives Resultat lieferten, hier nicht weiter tabellarisch ausführlicher wiedergegeben werden. — Wurde so auch eine Weiterführung dieser Versuchsreihe unmöglich, so hatte sich dabei doch ein recht eindringlicher Hinweis auf eine zwar nicht unbekannte, aber in der Literatur bisher wenig hervorgehobene Tatsache ergeben.

Darauf, daß es Antisera gibt, die gut das Komplement binden, jedoch bei der Präzipitation geringere Ausschläge

liefern, ist häufig hingewiesen. Dagegen werden kaum Sera erwähnt, die hochwertige präzipitierende Eigenschaften aufwiesen, ohne gute komplementbindende Fähigkeiten zu entfalten. Marx und Schultz (21) führen einen solchen Fall an, in dem die Präzipitation noch in Verdünnungen von 1:35 000 deutlichen Effekt zeigte, während bei der Komplementbindung die Reaktion schon mit 0,0001 unsicher war. Ferner findet sich ein erwähnenswerter Fall in den bei Friedemann und Isaac (19) wiedergegebenen Tabellen; in diesem Falle ließ sich Pferdeserum in der Blutbahn des Hundes vom 2.—8. Tage gleichmäßig mittels Präzipitation bei Verdünnung von 1:800 nachweisen, während die Nachweisbarkeit mit der Komplementbindung am Tage der Injektion zwar 1:1280 betrug, nach 24 Stunden jedoch auf 1:640 gefallen war und nun ständig unter das mit der Präzipitation gefundene Maß weiter hinabsank bis auf 1:160 am 7. Tage. — Aus derartigen Beobachtungen über die verschiedene Wirksamkeit eines Antiserums bei seiner Anwendung zu Präzipitations- und Komplementbindungsversuchen können allgemein vergleichende Schlüsse über die Exaktheit oder Zuverlässigkeit dieser beiden Methoden nicht gezogen werden. — In unserem Falle wäre nur bei dem Vorhandensein eines Antiserums, dessen komplementbindende Kraft bei der Prüfung mit Pferdeserum der präzipitierenden des von uns benutzten Antiserums die Wage hielt, eine Parallelisierung der Befunde möglich gewesen. — Da die benutzten Sera im frischen Zustande nur auf ihre Eigenschaften für die Präzipitierung geprüft worden waren, läßt sich nicht entscheiden, ob sie ihre komplementbindenden Fähigkeiten während der Aufbewahrung verändert hatten oder ob vielleicht durch die Filtration die komplementbindende Kraft beeinträchtigt worden war. Ihre präzipitierende Wirksamkeit zur Zeit der Anstellung der Versuche betrug, nach Nuttall gemessen:

Antiserum No. 303 5 mm Präzipitat
„ „ 363 9 „ „

Auch hier zeigte sich also ein beträchtlicher Unterschied in bezug auf die Stärke der präzipitierenden Kraft bei gleich hoher Empfindlichkeit. Das oben benutzte Antiserum 373

besaß bei demselben Präzipitationstiter von 1:20000 sogar nur eine Wirksamkeit von 2 mm Präzipitat nach Nuttall.

Das Gegenbeispiel eines gut komplementbindenden, aber nur schwach präzipitierenden Serums lieferte uns die nunmehr folgende Untersuchung der Serumentnahmen hinsichtlich des Auftretens der komplementbindenden Antikörper. Schon am 5. Tage ergab sich hier ein Resultat. An diesem Tage ließ sich eine komplementbindende Fähigkeit des Kaninchenserums A für 0,001 Pferdeserum feststellen, während die am 3. Tage unternommene Untersuchung noch ein negatives Resultat geliefert hatte. Den Befund vom 5. Tage gibt die folgende Tabelle wieder:

Tabelle X.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum A_5 und Pferdeserum. 5. Tag.

Pferdeserum	Serum A_5	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,075	0,05	1 St. d bei 37°	1,0	0
0,03	0,075	0,05		1,0	0
0,01	0,075	0,05		1,0	0
0,001	0,075	0,05		1,0	fast 0
0,0007	0,075	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

5. Tag

H. M.-D.: Pferdeserum 0,001 + Serum A_5 0,075 Gr. d. L.: fast 0

Die komplementbindende Fähigkeit war also in diesem Falle rund 4 Tage vor dem Auftreten von Präzipitinen (Tabelle VIII) entwickelt; eine analoge Beobachtung an mit menschlichem Serum vorbehandelten Kaninchen machten Muir und Martin (22).

Da die geringe komplementbindende Wirkung des oben zum Antigennachweis benutzten Antiserums 363 eine Feststellung von komplementbindungsfähigem Antigen über den 3. Tag hinaus nicht gestattete, ließ sich das Nebeneinandervorkommen von Antigen und Antikörper in diesem Falle nicht erweisen; während nun, wie oben ausgeführt, das Serum vom 5. Tage bereits die Fähigkeit erlangt hatte, mit 0,001 Pferdeserum eine stark komplementbindende Wirkung auszuüben, steigerte sich die weitere Ausbildung des komplement-

bindenden Antikörpers bis zum 12. Tage nur unbeträchtlich und zeigte sich am 16. Tage wieder auf die Fähigkeit 0,001 Pferdeserum nachzuweisen, reduziert. Das Nähere enthalten folgende Tabellen:

Tabelle XI.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum A_{12} und Pferdeserum. 12. Tag.

Pferdeserum	Serum A_{12}	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,1	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	0
0,03	0,1	0,05		1,0	0
0,01	0,1	0,05		1,0	0
0,001	0,1	0,05		1,0	0
0,0007	0,1	0,05		1,0	fast 0
0,0003	0,1	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

12. Tag.

H. M.-D.: Serum A_{12} 0,1 + Pferdeserum 0,0007 Gr. d. L.: fast 0.

Tabelle XII.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum A_{16} und Pferdeserum. 16. Tag.

Pferdeserum	Serum A_{16}	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,1	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	0
0,03	0,1	0,05		1,0	0
0,01	0,1	0,05		1,0	0
0,001	0,1	0,05		1,0	gering
0,0007	0,1	0,05		1,0	komplett
0,0003	0,1	0,05		1,0	„

Kontrollen komplett gelöst.

16. Tag.

H. M.-D.: Serum A_{16} 0,1 + Pferdeserum 0,001. Gr. d. L.: gering.

Diesem Verhalten der komplementbindenden Antikörper gegenüber erfolgte die Ausbildung der Präzipitine nicht nur beträchtlich später, sondern blieb auch in der erreichten Höhe bedeutend zurück; der 12.—13. Tag zeigte neben einer komplementbindenden Kraft mit 0,0007 Pferdeserum eine präzipitierende nur gegenüber einer Pferdeserumverdünnung bis 1:100. Gegen den 16. Tag hin zeigten die komplementbindenden wie die präzipitierenden Antikörper kein weiteres Ansteigen, eher eine gewisse Abnahme.

b) Nachweis des Dottereiweiß und des entsprechenden komplementbindenden Antikörpers.

Für die Untersuchungen zum Nachweise des Dottereiweiß mittels der Komplementbindung stand nur das bereits zur Präzipitierung benutzte und zurzeit der Entnahme ebenfalls nur auf seine präzipitierende Wirksamkeit geprüfte Dotterantiserum zur Verfügung. Die Auswertung der komplementbindenden Wirksamkeit mit Dotterlösung führte zu folgendem Ergebnis:

Tabelle XIII.

Auswertung des Dotterantiserums gegen 0,001 Dotter.

Dotterantiserum	Dotterlösung 1:200	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,2	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	fast komplett
0,07	0,2	0,05		1,0	stark
0,05	0,2	0,05		1,0	mäßig
0,03	0,2	0,05		1,0	gering
0,01	0,2	0,05		1,0	mäßig
0,001	0,2	0,05		1,0	fast komplett

Kontrollen komplett gelöst. Dotterlösungskontrolle: fast komplett.

H. M.-D.: Dotterantiserum 0,01 + Dotter 0,001 Gr. d. L.: gering.
Optimum 0,03 Dotterantiserum Gr. d. L.: gering.

Tabelle XIV.

Auswertung des Dotterantiserums gegen 0,0001 Dotter.

Dotterantiserum	Dotterlösung 1:2000	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,2	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	fast komplett
0,07	0,2	0,05		1,0	mäßig
0,05	0,2	0,05		1,0	„
0,03	0,2	0,05		1,0	gering
0,01	0,2	0,05		1,0	stark
0,001	0,2	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

H. M.-D.: Dotterantiserum 0,01 + Dotter 0,0001 Gr. d. L.: stark.
Optimum 0,03 Antiserum Gr. d. L.: gering.

Als Testdosis wurde 0,03 ccm gewählt und das Antiserum hiermit gegen fallende Mengen Dotterlösung austitriert; es ergab sich das folgende Resultat:

Tabelle XV.

Auswertung der Testdosis 0,03 des Dotterantiserums gegen fallende Mengen von Dotter.

Dotter	Dotterantiserum	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,01	0,03	0,05		1,0	fast 0[1])
0,001	0,03	0,05		1,0	Spur[1])
0,0001	0,03	0,05		1,0	gering
0,00005	0,03	0,05		1,0	komplett

H. M.-D.: Dotter 0,0001 + Dotterantiserum 0,03 Gr. d. L.: gering.

Es zeigte sich auch hier, daß das Antiserum in seiner komplementbindenden Kraft hinter seiner präzipitierenden zurück stand, wenn auch nicht in so auffallendem Maße wie die Pferdeantisera. Konnte also auch ebensowenig wie bei der Prüfung auf Pferdeserum auf ein mit den Resultaten der Präzipitation direkt vergleichbares Ergebnis gerechnet werden, so erschien es bei dem raschen Verschwinden des Dotters für die Nachweisbarkeit mittels der Präzipitation aber immerhin möglich, daß in diesem Falle doch auch mit diesem Antiserum das Antigen sich mittels der Komplementbindung eventuell noch länger nachweisen ließ als mit der Präzipitation. Die auf das komplementbindende Antigen des Dotters hin unternommenen Untersuchungen hatten ein positives Ergebnis bis zum 5. Tage. Das Nähere zeigen folgende Tabellen:

Tabelle XVI.

Komplementbindungsversuch mit Kaninchenserum I, 1.

1. Tag.

Serum I, 1	Dotterantiserum	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,2	0,03	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	gering
0,1	0,03	0,05		1,0	„
0,03	0,03	0,05		1,0	mäßig
0,01	0,03	0,05		1,0	„
0,001	0,03	0,05		1,0	stark
0,0005	0,03	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

1. Tag.

H. M.-D.: Serum I, 1 0,001 + Dotterantiserum 0,03 Gr. d. L.: stark.

1) Die eigenhemmende Wirkung der Kontrollen (Dotterlösungen ohne Antiserum) ist aus Tabelle XX ersichtlich.

Tabelle XVII.

Komplementbindungsversuch mit den Sera der Kaninchen I und II vom 3. Tage.

Ser. I, 3	Ser. II, 3	Dotter-antiserum	Kom-plement		Hämolyt. System	Ergebnis I, 3 Die Lysis war	Ergebnis II, 3 Die Lysis war
0,2	0,2	0,03	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	gering	mäßig
0,1	0,1	0,03	0,05		1,0	mäßig	„
0,03	0,03	0,03	0,05		1,0	„	stark
0,01	0,01	0,03	0,05		1,0	stark	„
0,001	0,001	0,03	0,05		1,0	„	„
0,0005	0,0005	0,03	0,05		1,0	komplett	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

3. Tag.

H. M.-D.: Serum I, 3 0,001 + Dotterantiserum 0,03 Gr. d. L.: stark.
Serum II, 3 0,001 + Dotterantiserum 0,03 Gr. d. L.: stark.

Tabelle XVIII.

Komplementbindungsversuch mit dem Kaninchenserum I, 5.

Serum I, 5	Dotteranti-serum	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,2	0,03	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	fast komplett
0,1	0,03	0,05		1,0	mäßig
0,03	0,03	0,05		1,0	„
0,01	0,03	0,05		1,0	stark
0,001	0,03	0,05		1,0	komplett

Kontrollen komplett gelöst.

5. Tag.

H. M.-D.: Serum I, 5 0,01 + Dotterantiserum 0,03 Gr. d. L.: stark.

Tabelle XIX.

Komplementbindungsversuche mit den Sera der Kaninchen I und IV vom 7. Tage.

Ser. I, 7	Ser. IV, 7	Dotter-antiserum	Kom-plement		Hämolyt. System	Ergebnis I, 7 Die Lysis war	Ergebnis IV, 7 Die Lysis war
0,2	0,2	0,03	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	komplett	komplett
0,1	0,1	0,03	0,05		1,0	„	„
0,03	0,03	0,03	0,05		1,0	„	„
0,01	0,01	0,03	0,05		1,0	„	„
0,001	0,001	0,03	0,05		1,0	„	„

Kontrollen komplett gelöst.

7. Tag.

H. M.-D.: Serum I, 7 + Dotterantiserum 0,03
Serum IV, 7 + Dotterantiserum 0,03 } überall komplette Lysis.

In diesem Falle konnte also das Dottereiweiß mittels der Komplementbindung ebenso lange wie mit der Präzipitation nachgewiesen werden. Die Komplementbindung zeigte eher einen etwas feineren Ausschlag, da auch am 3. und 5. Tage noch mit 0,01 bezw. 0,03 ccm Serum eine deutlich hemmende Wirkung erhalten wurde, während in diesen Tagen der Nachweis des Dotters mittels der Präzipitation sich nur noch in Verdünnungen 1:10 bis 1:1 erbringen ließ.

Bezüglich des Nachweises der komplementbindenden Antikörper (des Dotters) ist zunächst zu bemerken, daß nur schwache Konzentrationen der Dotterlösungen angewandt werden konnten, da konzentriertere Lösungen allein schon hemmend wirkten.

Tabelle XX.

Prüfung des Dotters auf komplementbindende Eigenschaften. — Dotterlösungen allein.

Dotterlösung	Komplement		Hämolytisches System	Ergebnis Die Lysis war
0,1	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	fast 0
0,03	0,05		1,0	„ 0
0,01	0,05		1,0	mäßig
0,003	0,05		1,0	fast komplett
0,001	0,05		1,0	„ „
0,0001	0,05		1,0	komplett

Hemmende Minimaldosis des Dotters 0,001: fast komplett.

Da also, wie die Tabelle zeigt, 0,01 ccm Dotter schon mäßige Hemmung bewirkte, wurden keine größeren Dosen zur Untersuchung auf das Vorhandensein von Antikörpern herangezogen. Von den Ergebnissen der Untersuchungen auf komplementbindende Antikörper seien folgende ausführlicher mitgeteilt:

Tabelle XXI.

Komplementbindungsversuch mit dem Kaninchenserum IV, 4. 4. Tag.

Dotter	Ser. IV, 4	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,01	0,1	0,05	1 Stunde bei 37°	1,0	0
0,003	0,1	0,05		1,0	mäßig
0,001	0,1	0,05		1,0	fast komplett[1])
0,0005	0,1	0,05		1,0	komplett

4. Tag.

H. M.-D.: Dotter 0,003 + Serum IV, 4 0,1 Gr. d. L.: mäßig.

1) Dotterlösungen allein, vergl. Tabelle XX.

Tabelle XXII.

Komplementbindungsversuch mit dem Kaninchenserum IV, 7. 7. Tag.

Dotter	Ser. IV, 7	Komplement		Hämolyt. System	Ergebnis Die Lysis war
0,003	0,1	0,05	1 Stunde bei 37°	1,0	fast 0
0,001	0,1	0,05		1,0	mäßig
0,0005	0,1	0,05		1,0	komplett

7. Tag.

H. M.-D.: Dotter 0,001 + Serum IV, 7 0,1 Gr. d. L.: mäßig.

Tabelle XXIII.

Komplementbindungsversuche mit dem Serum der Kaninchen III und IV vom 14. Tage. 14. Tag.

Dotter	Ser. III, 14	Dotter	Ser. IV, 14	Komplement		Hämolytisches System	Ergebnis III, 14	Ergebnis IV, 14 Die Lysis war
0,001	0,1	0,001	0,1	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	0	0
0,0005	0,1	0,0005	0,1	0,05		1,0	0	0
0,0001	0,1	0,0001	0,1	0,05		1,0	mäßig	fast 0
0,00005	0,1	0,00005	0,1	0,05		1,0	stark	mäßig
0,00001	0,1	0,00001	0,1	0,05		1,0	komplett	komplett

14. Tag.

H. M.-D.: Dotter 0,00005 + Serum III, 14 0,1 Gr. d. L.: stark.
Dotter 0,00005 + Serum IV, 14 0,1 Gr. d. L.: mäßig.

Tabelle XXIV.

Komplementbindungsversuche mit dem Serum der Kaninchen III und IV vom 18. Tage. 18. Tag.

Dotter	Ser. III, 18	Dotter	Ser. IV, 18	Komplement		Hämolytisches System	Ergebnis III, 18	Ergebnis IV, 18 Die Lysis war
0,001	0,1	0,001	0,1	0,05	1 Std. bei 37°	1,0	0	0
0,0005	0,1	0,0005	0,1	0,05		1,0	mäßig	fast 0
0,0001	0,1	0,0001	0,1	0,05		1,0	stark	mäßig
0,00005	0,1	0,00005	0,1	0,05		1,0	f. kompl.	stark
0,00001	0,1	0,00001	0,1	0,05		1,0	komplett	komplett

18. Tag.

H. M.-D.: Dotter 0,00005 + Serum III, 18 0,1 Gr. d. L.: fast komplett.
Dotter 0,00005 + Serum IV, 18 0,1 Gr. d. L.: stark.

Wie aus den Tabellen hervorgeht, traten die komplementbindenden Antikörper schon am 4. Tage auf, und zwar fiel die Reaktion mit 0,01 und 0,003 deutlich positiv aus. Es

ist hierbei allerdings zu berücksichtigen, daß, wie auch Tabelle XX zeigt, innerhalb dieser Grenzen auch die Dotterkontrollen allein schon eine ausgesprochene Hemmung bewirkten; doch war bei den angegebenen Röhrchen mit 0,01 und 0,003 die Hemmung gegenüber der durch Dotter allein bedingten so verstärkt, daß der spezifische Ausschlag deutlich in Erscheinung trat. Das weitere Ansteigen dieser Antikörper äußerte sich nun am 7. Tage in einer komplementbindenden Wirkung mit nur 0,001 Dotter (Tabelle XXII), am 14. Tage bedurfte es bei 2 der Serumproben hierzu nur 0,00005 Dotter. Bis zum 18. Tage machte sich dann schon ein geringes Zurückgehen der komplementbindenden Antikörper bemerkbar, wenn auch immer noch 0,00005 Dotter eine erkennbare Hemmung erzeugte. Eine geringere Entwicklung der komplementbindenden Antikörper verglichen mit der bei Kaninchen III und IV aufgetretenen zeigte das Kaninchen I; dessen Serum vermochte bei keiner Entnahme bis zum 19. Tage eine Hemmung mit einer geringeren Menge als 0,0001 Dotter zu bewirken. Das Protokoll dieses letzteren Tages sei hier angefügt:

Tabelle XXV.

Komplementbindungsversuch mit dem Kaninchen I, 19. 19. Tag.

Dotter	Ser. I, 19	Komplement		Hämolytisches System	Ergebnis Die Lysis war
0,01	0,15	0,05	1 Stunde bei 37°	1,0	0
0,005	0,15	0,05		1,0	0
0,001	0,15	0,05		1,0	mäßig
0,0005	0,15	0,05		1,0	stark
0,0001	0,15	0,05		1,0	fast komplett
0,00005	0,15	0,05		1,0	komplett

19. Tag.

H. M.-D.: Dotter 0,0001 + Serum I, 19 0,15 Gr. d. L.: fast komplett.

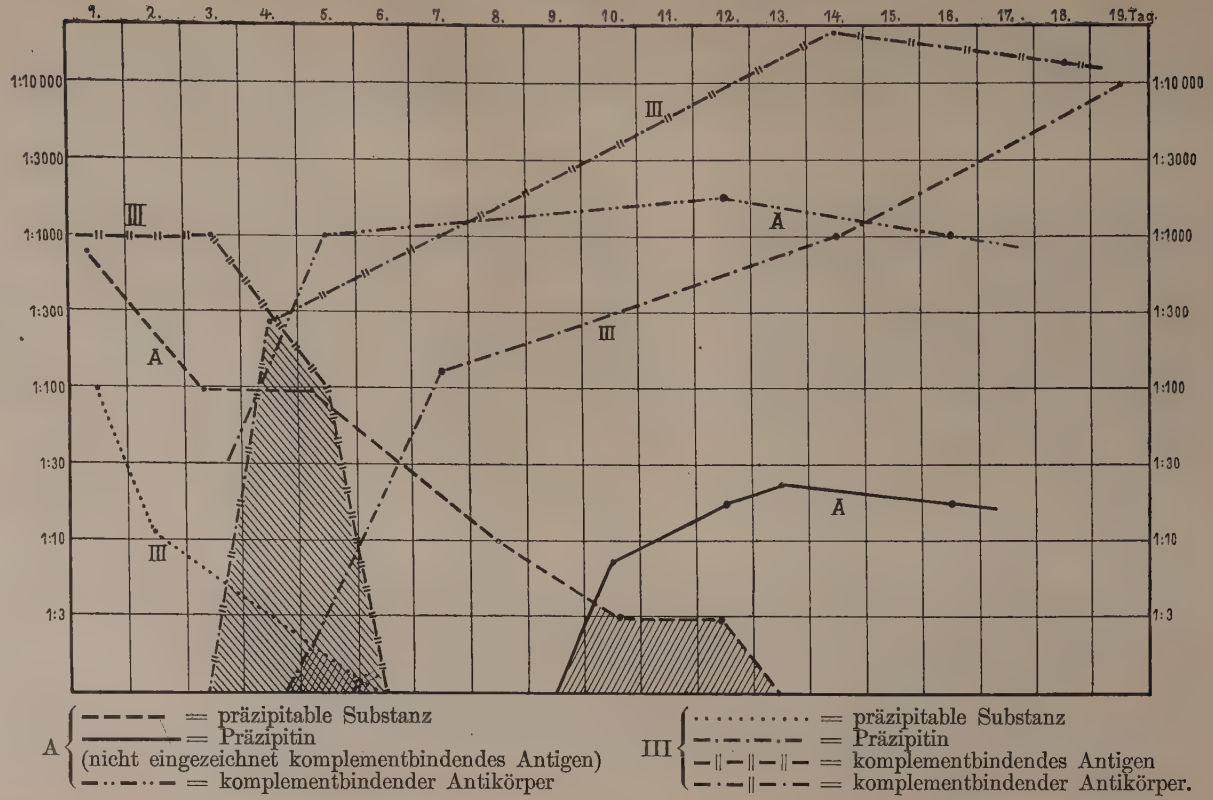
Kontrollen zu Tabelle XXI—XXV, vergl. Tabelle XX. Serum allein und Komplement allein geben in allen Fällen komplette Lysis.

Die Ausbildung der Präzipitine in den gleichen Blutproben war bei den genannten Tieren III und IV eine der Bildung von komplementbindendem Antikörper annähernd parallel gehende; auch das Kaninchen I blieb bezüglich der Präzipitinbildung gegenüber den anderen nicht zurück.

Vergleichen wir das Auftreten und die Ausbildung der auf die Injektion von Dotter und auf die Injektion von Serum sich bildenden komplementbindenden Antikörper und ziehen wir das Verhalten der Präzipitine zu dieser Betrachtung heran, so ergeben sich folgende Beziehungen, zu deren Erläuterung die Befunde eines der mit Dotterinjektion und eines der mit Pferdeserum vorbehandelten Tiere in Kurve 8 dargestellt sind.

Sowohl bei den mit Pferdeserum als auch bei den mit Dotter vorbehandelten Kaninchen traten die komplementbindenden Antikörper bereits verhältnismäßig früh (bereits am 4.—5. Tage) auf, und zwar bevor die Präzipitine nachweisbar wurden. Bei den mit Pferdeserum injizierten Tieren waren sie mindestens 3 Tage vor den Präzipitinen festzustellen, bei den Dottertieren dagegen war diese Zeitdifferenz geringer (ca. 1—2 Tage). Die komplementbindenden Antikörper erreichten nun zunächst schon zwischen dem 4. und 5. Tage rasch eine recht beträchtliche Höhe (mit 0,003—0,001 Antigen wirksam). Während dieses Zeitraumes wurden Präzipitine nur bei den Dottertieren beobachtet, welche sich gegen Dottereiweißverdünnungen 1:100 bis 1:300, in einem Falle 1:1000 wirksam erwiesen. Im weiteren Verlauf bis zum 12. Tage zeigten die komplementbindenden Antikörper der Pferdeserumkaninchen nur noch ein geringeres Ansteigen (mit 0,0007 Antigen wirksam). Auch die Präzipitine verhielten sich in dieser Hinsicht bei diesen Tieren ähnlich. Sie traten am 8.—9. Tage auf, hielten sich verhältnismäßig auf geringer Höhe (gegen Pferdeserumverdünnungen 1:10, höchstens 1:100 wirksam) und blieben somit hinter der Entwicklung der komplementbindenden Antikörper weit zurück. Einen etwas anderen Verlauf nahm die Entwicklung der Antikörper in dieser Zeit bei den Dottertieren, hier stiegen vom 7. bis 12. Tage die komplementbindenden Antikörper ständig und beträchtlich an (mit 0,001 bis 0,0001 und zuletzt mit 0,00005 Antigen wirksam); ebenso nahmen die Dotterpräzipitine in dieser Zeit zu (gegen Dottereiweißverdünnungen 1:1000 bezw. 1:3000 wirksam). Später (13.—16. bezw. 19. Tag) zeigte sich allenthalben eine gewisse Abnahme des Bestandes an Antikörpern, nur die Dotterpräzipitine stiegen noch weiter an (gegen Dotter-

Kurve 8. Verhalten der komplementbindenden Antikörper und der Präzipitine[1]).
A = Pferdeserum-Kaninchen; III = Dotterkaninchen.



1) Die in dieser Kurve nicht aufgeführten Präzipitinkurven sind in Kurve 2 und 5 enthalten; die Entwicklung der komplementbindenden Antikörper ging bei Kaninchen A und B sowie bei Kaninchen III und IV annähernd parallel. Ueber das Verhalten des Kaninchen I vergl. Tabelle XXV und den folgenden Text.

eiweißlösungen 1:12000 wirksam) und erreichten zu dieser Zeit etwa die gleiche Ausbildungshöhe wie die komplementbindenden Antikörper in demselben Serum. Bei dem Kaninchen I war die Ausbildung der komplementbindenden Antikörper stets etwas geringer gewesen (höchstens 1:10000 schwach wirksam); die Präzipitine erreichten aber auch bei diesem Tiere eine bedeutende Ausbildung und überschritten dabei (gegen Dotterlösungen 1:12000 wirksam) sogar den von den komplementbindenden Antikörpern erreichten Wert.

Was das Nebeneinanderbestehen des Antigens und der komplementbindenden Antikörper anbelangt, so gab die Untersuchungsreihe mit Pferdeserum aus den oben erörterten Gründen in dieser Hinsicht keine verwertbaren Resultate. Dagegen ließ sich bei den Dotterversuchsreihen das gleichzeitige Nebeneinanderbestehen von Antigen und komplementbindenden Antikörpern über etwa 2 Tage erweisen (vergl. Kurve 8).

III. Anaphylaxie.

a) Nachweis des injizierten Pferdeserums mittels der Anaphylaxie sowie Nachweis des anaphylaktischen Antikörpers.

Zum Zwecke des Nachweises des Pferdeserums mittels der Ueberempfindlichkeit wurden von 14 über die Untersuchungszeit verteilten Serumentnahmen der vorbehandelten Kaninchen je 2 Meerschweinchen mit 0,5 bezw. 0,25 ccm Serum subkutan injiziert. Die Prüfungsinjektion erfolgte mit 0,5 ccm Pferdeserum intracardial. Von der Anwendung quantitativ abgestufter Mengen des Pferdeserums bei der Prüfung mußte abgesehen werden, da von den einzelnen Entnahmen mit Rücksicht auf die beschränkten zur Verfügung stehenden Serummengen immer nur höchstens 2 Tiere für diese Versuchsreihe angesetzt werden konnten. Sämtliche Meerschweinchen wurden zwischen dem 33. und 41. Tage reinjiziert: das Pferdeserum war durch $^1/_2$-stündiges Erwärmen auf 60° inaktiviert und vor der Injektion einige Zeit bei 37° gehalten. — In nachfolgender Tabelle sind die Resultate dieser Versuchsreihe wiedergegeben.

Tabelle A.

Verzeichnis der mittels aktiver Anaphylaxie (auf Pferdeserum) geprüften Meerschweinchen.

No.	Vorbehandelt subkutan mit ... ccm einer Serumentnahme vom ... Tage	Reinjiziert mit Pferdeserum intracardial ... ccm nach ... Tagen	Ergebnis
1	0,5 ccm vom 1. Tage	0,5 ccm nach 41 Tagen	schwere Symptome, † nach 12 Minuten
2	0,25 „ „ 1. „	0,5 „ „ 41 „	schwere Symptome
3	0,5 „ „ 2. „	0,5 „ „ 40 „	leichte Symptome
4	0,25 „ „ 2. „	0,5 „ „ 40 „	schwere Symptome
5	0,5 „ „ 3. „	0,5 „ „ 39 „	schwere Symptome, † nach 20 Minuten
6	0,25 „ „ 3. „	0,5 „ „ 39 „	schwere Symptome, † nach 15 Minuten
7	0,5 „ „ 4. „	0,5 „ „ 38 „	leichte Symptome
8	0,25 „ „ 4. „	0,5 „ „ 38 „	leichte Symptome
9	0,5 „ „ 5. „	0,5 „ „ 37 „	schwere Symptome, † nach 5 Minuten
10	0,25 „ „ 5. „	0,5 „ „ 37 „	schwere Symptome, † nach 12 Minuten
11	0,5 „ „ 6. „	0,5 „ „ 36 „	leichte Symptome
12	0,25 „ „ 6. „	0,5 „ „ 36 „	schwere Symptome, † nach 8 Minuten
13	0,5 „ „ 8. „	0,5 „ „ 41 „	sehr schwere Sympt., † nach ½ Minuten
14	0,25 „ „ 8. „	0,5 „ „ 41 „	leichte Symptome
15	0,5 „ „ 9. „	0,5 „ „ 40 „	schwere Symptome, † nach 1 Minute
16	0,25 „ „ 9. „	0,5 „ „ 40 „	schwere Symptome, † nach 1 Minute
17	0,5 „ „ 10. „	0,5 „ „ 39 „	leichte Symptome
18	0,25 „ „ 10. „	0,5 „ „ 39 „	schwere Symptome
19	0,5 „ „ 12. „	0,5 „ „ 37 „	keine deutlichen Erscheinungen
20	0,25 „ „ 12. „	0,5 „ „ 37 „	schwere Symptome
21	0,5 „ „ 13. „	0,5 „ „ 36 „	leichte Symptome
22	0,25 „ „ 13. „	0,5 „ „ 36 „	schwere Symptome
23	0,5 „ „ 13. „	0,5 „ „ 36 „	leichte Symptome
24	0,25 „ „ 13. „	0,5 „ „ 36 „	schwere Symptome
25	0,5 „ „ 16. „	0,5 „ „ 33 „	schwere Symptome, † nach 4 Minuten
26	0,25 „ „ 16. „	0,5 „ „ 33 „	schwere Symptome
27	0,5 „ „ 16. „	0,5 „ „ 33 „	schwere Symptome
28	0,25 „ „ 16. „	0,5 „ „ 33 „	leichte Symptome

4 Kontrolltiere: Ohne Symptome.

Anmerkung. Schwere Symptome = allgemeine Krämpfe, leichte Symptome = Jucken, Kratzen, Unruhe, krampfartige Kau- und Würgbewegungen. Urin- und Kotabgang.

Es gelang sonach in dieser Versuchsreihe, bis zum 16. Tage mittels der Anaphylaxiereaktion im Serum des Kaninchens Spuren von Pferdeeiweiß nachzuweisen. Bei der Prüfung erkrankten im allgemeinen die mit den Serumentnahmen der späteren Tage sensibilisierten Meerschweinchen unter ebenso schweren Erscheinungen wie die mit den Serumentnahmen der ersten Tage vorbehandelten Tiere. Bemerkenswert ist allerdings, daß unter den mit Entnahmen bis zum 10. Tage vorbehandelten Meerschweinchen bei der Prüfung viele zugrunde gingen, während die mit später entnommenem Serum vorgespritzten Tiere alle am Leben blieben bis auf eines, welches mit am 16. Tage entnommenem Serum vorbehandelt war. Aus dieser Beobachtung etwa die Annahme abzuleiten, daß die Entnahmen nach dem 10. Tage schlechter sensibilisierend gewirkt hätten, erscheint jedoch nicht gerechtfertigt, da doch auch mit Serum von den ersten Entnahmen gespritzte Tiere ebenfalls mit dem Leben davonkamen und die beobachteten Differenzen sich auch schon durch die verschiedenartige Disposition der einzelnen Meerschweinchen ausreichend erklären lassen. — Die Ergebnisse aus dieser Versuchsreihe lassen daher nur im allgemeinen den Schluß zu, daß noch am 16. Tage sensibilisierend wirkendes Antigen in der Blutbahn der Kaninchen kreiste, sie geben aber in quantitativer Hinsicht darüber keine näheren Anhaltspunkte.

Die Prüfung auf das Auftreten und das weitere Vorhandensein des anaphylaktischen Antikörpers durch passive Anaphylaxieversuche konnte mit Rücksicht auf die dazu erforderlichen größeren Mengen der Kaninchensera nur mit einzelnen Entnahmen vorgenommen werden. Es wurden zu diesem Zwecke die Meerschweinchen mit je 2 ccm Kaninchenserum intraperitoneal vorbehandelt und nach 24 Stunden intracardial geprüft. Es handelte sich um die Entnahmen vom 5., 9. und 16. Tage. — Das Resultat gibt Tabelle B.

Es ergibt sich somit, daß die mit dem am 5. Tage entnommenen Kaninchenserum passiv vorbehandelten Meerschweinchen auf die 24 Stunden später erfolgte intracardiale Prüfung mit 0,5 ccm Pferdeserum unter schweren, typisch anaphylaktischen Symptomen erkrankten und ein Tier nach 5 Minuten starb. Ebenso erkrankten die mit dem Kaninchen-

Tabelle B.

Verzeichnis der auf das Vorhandensein des anaphylaktischen Antikörpers geprüften Meerschweinchen.

No.	Vorbehandelt intraperitoneal mit ... ccm einer Serumentnahme vom ... Tage	Reinjiziert intracardial mit ... ccm Pferdeserum nach ... Stunden	Ergebnis
29	2 ccm vom 5. Tage	0,5 ccm nach 24 Std.	schwere Sympt., † nach 5 Minuten
30	2 „ „ 5. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Sympt., überlebt
31	2 „ „ 9. „	0,5 „ „ 24 „	leichte Sympt., überlebt
32	2 „ „ 9. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Sympt., überlebt
33	2 „ „ 16. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Sympt., überlebt
34	2 „ „ 16. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Sympt., † nach 1 Minute

Mit normalem Kan.-Ser. vorbehandelte Kontrolltiere: Ohne Symptome.

serum der Entnahmen vom 9. und 16. Tage vorbehandelten Tiere in charakteristischer Weise, allerdings ging ebenfalls nur noch eines der mit Serum vom 16. Tage vorgespritzten Tiere zugrunde. Es gelang also bereits vom 5. Tage an, mit denselben Serumentnahmen Meerschweinchen sowohl aktiv als auch passiv für die spätere Prüfung mit Pferdeserum anaphylaktisch zu machen. Es erscheint besonders bemerkenswert, daß sich der anaphylaktische Antikörper bereits verhältnismäßig früh schon in solcher Menge gebildet fand, daß schon eine passive Uebertragung am 5. Tage möglich war, an welchem die Untersuchung auf Präzipitine, wie aus Kurve 2 hervorgeht, noch ein völlig negatives Ergebnis hatte. Daraus kann man allerdings noch nicht mit Sicherheit auf eine Verschiedenheit der Präzipitine und der anaphylaktischen Antikörper schließen. Komplementbindende Antikörper waren an diesem Tage in dem Serum allerdings bereits nachweisbar (vergl. Tabelle X und Kurve 8). — Aus dem oben bereits angegebenen Grunde war eine quantitative Auswertung auch hier nicht möglich.

b) Nachweis des injizierten Dotters und des entsprechenden Antikörpers mittels der Anaphylaxie.

Zum Nachweis des Dotters mittels der aktiven Anaphylaxie wurden je zwei (am 14. Tage drei) Meerschweinchen

mit je 0,5 ccm Serum der Entnahmen vom 5., 7., 11., 14. und 19. Tage subkutan vorbehandelt. Die Prüfungsinjektion erfolgte ebenfalls intracardial, und zwar wurde je 1 ccm einer zuvor bei 37° gehaltenen Dotterlösung 1:10 injiziert; die Prüfung mußte aus äußeren Gründen bereits am 12. bezw. 18. Tage nach der ersten Injektion vollzogen werden. Das Resultat gibt folgende Tabelle wieder.

Tabelle C.

Verzeichnis der auf Dotter mittels aktiver Anaphylaxie geprüften Meerschweinchen.

No.	Vorbehandelt subkutan mit ... ccm einer Serumentnahme vom ... Tage	Reinjiziert intracardial mit ... ccm Dotterlösung 1:10 am ... Tage	Ergebnis
35	0,5 ccm vom 5. Tage	1 ccm nach 18 Tagen	schwere Sympt., überlebt
36	0,5 „ „ 5. „	1 „ „ 18 „	leichte Sympt., überlebt
37	0,5 „ „ 7. „	1 „ „ 12 „	schwere Sympt., überlebt
38	0,5 „ „ 7. „	1 „ „ 12 „	schwere Sympt., überlebt
39	0,5 „ „ 11. „	1 „ „ 12 „	schwere Sympt., überlebt
40	0,5 „ „ 11. „	1 „ „ 12 „	schwere Sympt., überlebt
41	0,5 „ „ 14. „	1 „ „ 12 „	schwere Sympt., überlebt
42	0,5 „ „ 14. „	1 „ „ 12 „	mäßig schwere Symptome, überlebt
43	0,5 „ „ 14. „	1 „ „ 12 „	schwere Sympt., überlebt
44	0,5 „ „ 19. „	1 „ „ 12 „	sofort †; ob anaphylaktisch, unsicher
45	0,5 „ „ 19. „	—	ging vor der Reinjektion ein

2 Kontrolltiere: Ohne Symptome.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, zeigten fast alle Tiere recht schwere Erscheinungen; doch überlebten sie sämtlich die Prüfungsinjektion mit Ausnahme von Meerschweinchen 44, das aber keine sicheren Erscheinungen gezeigt hatte. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß dies vielleicht mit darin begründet ist, daß die Nachprüfung verhältnismäßig früh erfolgt war, und daß bei einem späteren Prüfungstermin eventuell auch Todesfälle aufgetreten wären. Nach Doerr und Russ (23) sowie Uhlenhuth und Haendel (24) ist bei Sensibilisierung von Meerschweinchen mit kleinen Antigenmengen die Länge des zwischen erster Injektion und der

Prüfung liegenden Zeitraumes nicht ohne Einfluß auf das Resultat bei der Reinjektion. Jedenfalls geht aus den Prüfungsergebnissen aber doch hervor, daß bis zum 14. Tage in dem Serum der vorbehandelten Tiere noch genügend Dottereiweißreste vorhanden waren, um beim Meerschweinchen die Auslösung eines anaphylaktischen Zustandes gegen Dottereiweiß zu bewirken. Die Prüfung des mit der Serumentnahme vom 19. Tage vorbehandelten Meerschweinchens hatte kein klares Ergebnis. — Auch in dieser Versuchsreihe konnte sonach mittels der Anaphylaxie das artfremde Eiweiß (Dottereiweiß) in der Blutbahn des Kaninchens erheblich länger nachgewiesen werden als mit der Präzipitation und Komplementbindung.

Mit Bezug auf das Auftreten des anaphylaktischen, gegen Dottereiweiß gerichteten Antikörpers wurden gemäß dem auch hier nur in beschränkter Menge zur Verfügung stehenden Kaninchenserum ebenfalls nur einzelne Entnahmen geprüft. Es waren dies Serumproben vom 5., 14., 18. und 19. Tage; mit diesen wurden je zwei Meerschweinchen mit 2 bezw. 1 ccm intraperitoneal injiziert. Die Prüfungsinjektion wurde mit je 0,5 ccm Dotterlösung intracardial vollzogen. Die Resultate sind in der folgenden Uebersicht zusammengestellt.

Tabelle D.

Verzeichnis der auf das Vorhandensein des anaphylaktischen Antikörpers geprüften Meerschweinchen.

No.	Vorbehandelt intraperitoneal mit ... ccm einer Entnahme vom ... Tage	Reinjiziert intercardial mit ... ccm nach ... Stunden	Ergebnis
46	2 ccm vom 5. Tage	0,5 ccm nach 24 Std.	leichte Symptome
47	1 „ „ 5. „	0,5 „ „ 24 „	leichte Symptome
48	2 „ „ 14. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Symptome
49	1 „ „ 14. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Symptome
50	2 „ „ 18. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Symptome
51	2 „ „ 18. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Symptome; † nach 2 Min.
52	2 „ „ 19. „	0,5 „ „ 24 „	sofort †, ob überempfindlich?
53	2 „ „ 19. „	0,5 „ „ 24 „	schwere Symptome

2 Kontrolltiere: Ohne Symptome.

Die Versuche ergeben, daß der Nachweis für das Vorhandensein des gegen Dottereiweiß gerichteten anaphylaktischen Antikörpers wie bei den Pferdeserumkaninchen schon am 5. Tage erbracht werden konnte, doch waren die anaphylaktischen Erscheinungen der beiden mit dem Serum dieses Tages vorbehandelten Meerschweinchen nur leichter Natur. Die mit den späteren Entnahmetagen entstammenden Serumproben passiv vorbehandelten Tiere erkrankten sämtlich unter recht schweren Symptomen, eines der mit einer Serumprobe vom 18. Tage vorgespritzten Tiere ging dabei zugrunde. Es bestand also auch bei diesem Kaninchen sensibilisierendes Antigen und anaphylaktischer Antikörper einige Zeit gleichzeitig nebeneinander. — Die quantitative Auswertung konnte auch hier nicht durchgeführt werden.

Zusammenfassung.

a) Nachweis des Pferdeserums.

I. Nachweis des Pferdeserums mittels Präzipitation.

Nach einmaliger intravenöser Injektion von 5 ccm Pferdeserum ließ sich beim Kaninchen mittels der Präzipitation das Pferdeserum bis zum 12. Tage in der Blutbahn kreisend nachweisen. Die präzipitable Substanz zeigte die ersten 3 Tage ein sehr starkes, später ein langsames Zurückgehen.

Das Präzipitin trat zwischen dem 7. und 9. Tage auf, erreichte in mäßigem Anstiege bis zum 13. Tage seine höchste Höhe, und ließ am 16. Tage bereits einen geringen Rückgang erkennen.

Präzipitable Substanz und Präzipitin waren etwa 3 Tage nebeneinander nachweisbar.

II. Nachweis des Pferdeserums mittels Komplementbindung.

Mittels der Komplementbindung ließ sich das Antigen nur bis zum 3. Tage nachweisen; dabei ist in Rücksicht zu ziehen, daß die zur Verfügung stehenden Sera (dieselben, die zur

Präzipitation benutzt waren) nur eine verhältnismäßig geringe komplementbindende Wirksamkeit entfalteten. Die in diesem Falle sehr deutlich hervorgetretene Erscheinung, daß hochwertig präzipitierende Sera unter Umständen einen verhältnismäßig geringen komplementbindenden Wirkungsgrad besitzen, ist in praktischer Hinsicht von Bedeutung.

Die komplementbindenden Antikörper wurden bereits am 5. Tage in ziemlich beträchtlicher Ausbildung nachgewiesen, sie zeigten weiterhin einen nur unbedeutenden Anstieg und ließen nach dem 12. Tage eine leichte Abnahme erkennen. Dem Auftreten der Präzipitine gingen sie zeitlich voran und übertrafen sie auch beträchtlich an Wirkungswert.

III. Nachweis des Pferdeserums mittels der Anaphylaxie.

Mit der Anaphylaxie konnte der Nachweis für das Vorhandensein von sensibilisierendem Antigen mindestens bis zum 16. Tage erbracht werden. Das Antigen war mithin noch nachweisbar, als die Präzipitine und die komplementbindenden Antikörper schon die Höhe ihrer Ausbildung erreicht hatten, und selbst als sie schon im leichten Rückgange begriffen waren.

Der anaphylaktische Antikörper war bereits am 5. Tage nachzuweisen; zugleich mit ihm war auch der komplementbindende Antikörper aufgetreten; beide Antikörper traten somit um mehrere Tage früher in die Erscheinung als die präzipitierende Wirkung der Sera.

Der anaphylaktische Antikörper konnte vom 5. Tage an neben dem sensibilisierenden Antigen nachgewiesen werden.

b) Nachweis des Dotters.

I. Nachweis des Dotters mittels Präzipitation.

Nach einer einmaligen intravenösen Injektion von 10 ccm einer 50-proz. Dotterlösung ließ sich mittels der Präzipitation der Dotter beim Kaninchen bis zum 5. Tage in der Blutbahn nachweisen. Die präzipitable Substanz zeigte aber hier gegen-

über dem Verhalten des Pferdeserums ein rascheres Absinken.

Das Präzipitin trat am 4.—5. Tage auf und erreichte im Vergleich zu den gegen Pferdeserum gerichteten Präzipitinen einen ganz beträchtlich höheren Wirkungswert, der auch am 18.—19. Tage keinen wesentlichen Rückgang erkennen ließ.

Die Zeit des Nebeneinanderbestehens von präzipitabler Substanz und Präzipitin erstreckte sich hier nur auf einen Tag.

II. Nachweis des Dotters mittels der Komplementbindung.

Mit der Komplementbindung ließ sich das Dotterantigen bis zum 5. Tage feststellen, und zwar wurden an diesem Tage mit der Komplementbindung noch etwas weitgehendere Ausschläge erhalten als mit der Präzipitation.

Die komplementbindenden Antikörper wurden bereits am 4. Tage nachgewiesen. Ihre Ausbildung überstieg ebenfalls die der entsprechenden Antikörper gegen Pferdeserum in der ersten Versuchsreihe beträchtlich; sie erreichte bis zum 14. Tage eine Höhe, welche die der Präzipitine noch übertraf. Am 18. Tage machte sich ein geringer Rückgang bemerkbar, so daß nunmehr der Wirkungswert der Präzipitine dem der komplementbindenden Antikörper gleichkam und ihn in einem Falle sogar überschritt.

Das gleichzeitige Vorhandensein von komplementbindendem Antikörper und mittels dieser Methode nachweisbaren Antigenmengen erstreckte sich auf 2 Tage.

III. Nachweis des Dotters mittels der Anaphylaxie.

Der Nachweis des Vorhandenseins von sensibilisierendem Antigen konnte bis mindestens zum 14. Tage erbracht werden. Wie beim Pferdeserum gelang auch hier mittels der Anaphylaxie die Feststellung des Antigens noch zu einer Zeit, als die präzipitable Substanz und das komplementbindungsfähige Antigen nicht mehr nachweisbar waren, und die Ausbildung

der Präzipitine schon ein hohes Maß, die komplementbindenden Antikörper bereits ihren Höhepunkt erreicht hatten.

Der anaphylaktische Antikörper konnte, wie in der Versuchsreihe mit Pferdeserum, ebenfalls vom 5. Tage an nachgewiesen werden, so daß auch hier sensibilisierendes Antigen und der entsprechende Antikörper über einen recht langen Zeitraum gleichzeitig nebeneinander vorhanden waren.

Die Arbeit wurde in der bakteriologischen Abteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht dem Herrn Präsidenten des Kaiserlichen Gesundheitsamtes Wirkl. Geh. Oberreg.-Rat Dr. Bumm für die gütige Bewilligung eines Arbeitsplatzes, sowie Herrn Direktor Prof. Dr. Uhlenhuth für das der Arbeit entgegengebrachte Interesse meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Herrn Stabsarzt Dr. Haendel bin ich für die Anregung zu der Arbeit aufrichtig verpflichtet.

Literatur.

1) Uhlenhuth, P., Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr., 1900, No. 46.
2) Ascoli, Neue Tatsachen und neue Ausblicke in der Lehre der Ernährung. Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 5.
3) Kentzler, Weitere Untersuchungen über die Arteigenheitsverluste der körperfremden Eiweißstoffe. Berl. klin. Wochenschr., 1907, p. 1199.
4) Hamburger und Sperk, Biologische Untersuchungen über Eiweißresorption vom Darm aus. Wiener klin. Wochenschr., 1904, No. 23.
5) Ganghofner und Langner, Ueber die Resorption genuiner Eiweißkörper im Magendarmkanal neugeborener Tiere und Säuglinge. Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 34.
Vergl. Uffenheimer, Experimentelle Studien über die Durchgängigkeit der Wandungen des Magen-Darmkanales etc. Arch. f. Hyg., Bd. 55, 1906, p. 85.
6) Bauer, zitiert bei Moro, vergl. No. 7.
7) Moro, Kuhmilchpräzipitin im Blute eines $4^1/_2$ Monate alten Atrophikers. Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 6.
— Weitere Untersuchungen über Kuhmilchpräzipitin im Säuglingsblute. Ibid., No. 45.
8) Ascoli, M., Ueber den Mechanismus der Albuminurie durch Eiereiweiß. Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 10.

9) Stokvis, Sosath, Knipers, Lecorche und Talamon, Verdelli und Gabbi, zitiert bei Ascoli, siehe No. 8.
10) Ransom, Journ. of Pathol. and Bact., 1899, p. 180.
11) Pfeiffer und Friedberger, Ueber den Verbleib der bakteriolytischen Immunkörper im tierischen Organismus nach der passiven Immunisierung. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, 1904, p. 131.
12) Jörgensen und Madsen, zitiert nach Kraus und Joachim, siehe No. 13.
13) Kraus und Joachim, Wien. klin. Wochenschr., 1903, No. 50.
14) Römer und Sames, Ueber die Haltbarkeit heterologen Antitoxins im Organismus. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 4, 1909, Heft 3.
— Zur Bestimmung sehr kleiner Mengen Diphtherie-Antitoxins. Ibid., Heft 6.
15) v. Dungern, Die Antikörper, 1903.
16) Hamburger und Moro, Ueber die biologisch nachweisbaren Veränderungen des menschlichen Blutes nach Seruminjektion. Wien. klin. Wochenschr., 1903, No. 15.
17) Dehne und Hamburger, Experimentaluntersuchungen über die Folgen parenteraler Einverleibung von Pferdeserum. Wiener klin. Wochenschr., 1904, No. 29.
18) Hamburger und v. Reuß, Die Folgen parenteraler Injektion von verschiedenen genuinen Eiweißkörpern. Ibid., 1904, No. 31.
19) Friedemann, U., und Isaac, S., Ueber Eiweißimmunität und Eiweißstoffwechsel. Zeitschr. f. experim. Path. u. Ther., Bd. 3, 1906.
— Weitere Untersuchungen über parenteralen Eiweißstoffwechsel, Immunität und Empfindlichkeit. Ibid., Bd. 4, 1907.
20) Obermayer und Pick, Beiträge zur Kenntnis der Präzipitinbildung. Wien. klin. Wochenschr., 1904, No. 10, p. 275; vergl. auch 1906, No. 12.
21) Marx und Schulz, Klin. Jahrb., Bd. 19, 1908, p. 65.
22) Muir and Martin, On the deviation etc. Journ. of Hyg., Vol. 6, 1906.
23) Doerr und Russ, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 2, 1909, Heft 1.
24) Uhlenhuth und Haendel, Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxie zur Erkennung und Unterscheidung verschiedener Eiweißarten. Ibid., Bd. 4, 1910, Heft 6.
25) Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens etc. Jena (Gustav Fischer) 1909.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3744

Lebenslauf.

Verfasser ist der Sohn des verstorbenen Geheimen Rechnungsrats im Reichs-Marine-Amt Hermann Hintze und seiner Ehefrau Marie, geb. Teschner. Ich wurde als jüngstes von drei Geschwistern geboren am 16. Mai 1881 zu Wilhelmshaven und daselbst getauft in der evangelischen Konfession im September 1881.

Den ersten Schulunterricht erhielt ich in der Schillmannschen höheren Knabenschule zu Berlin vom April 1888 bis Oktober 1890. Darauf besuchte ich das Friedrich-Wilhelms-Gymnasium zu Berlin bis zum Oktober 1893 und das Gymnasium zu Gr.-Lichterfelde, das ich im März 1902 mit dem Zeugnis der Reife verließ. — Meine Konfirmation fand im April 1897 in der Kirche der Haupt-Kadettenanstalt statt.

Nach dreisemestrigem juristischem Studium in Heidelberg und München wandte ich mich dem Studium der Medizin zu in Berlin, Breslau und Heidelberg. In Berlin bestand ich im März 1906 die ärztliche Vorprüfung, im März 1909 die ärztliche Staatsprüfung. Im praktischen Jahre (3. März 1909 bis 2. März 1910) war ich an den Kliniken und Polikliniken für Haut- und Geschlechtskrankheiten (Prof. Dr. Lesser) und für Hals- und Nasenkrankheiten (Prof. Dr. Fränkel) an der Kgl. Charité, sowie an der inneren Abteilung des Krankenhauses zu Gr.-Lichterfelde (Prof. Dr. Brandenburg) tätig.